

PREHĽAD BIORELEVANTNÝCH DYNAMICKÝCH DISOLUČNÝCH PRÍSTROJOV

TOMÁŠ BÍLIK^a, IVAN STUPÁK^b, JAKUB
VYSLOUŽIL^a, MARTIN ČULEN^b
a JIŘÍ DOHNAL^c

^a Ústav farmaceutické technológie, ^b Ústav chemických
léciv, ^c Ústav aplikovanej farmacie, Farmaceutická fakulta,
Masarykova univerzita, Palackého třída 1946/1, 612 42
Brno
ivan.stupak@gmail.com

Došlo 28.5.21, prijaté 12.7.21.

Kľúčové slová: pevné perorálne liekové formy, biorele-
vantná skúška disolúcie, *in vitro* gastrointestinálny systém

Obsah

1. Úvod
2. Prehľad prístrojov
 - 2.1. Jedno-kompartimentové systémy
 - 2.1.1. Prostredie žalúdka
 - 2.1.2. Prostredie tenkého čreva
 - 2.1.3. Prostredie hrubého čreva
 - 2.2. Viac-kompartimentové systémy
3. Záver

1. Úvod

Vo farmakoterapii systémových ochorení je stále najrozšírenejší perorálny spôsob podania liečivej látky (ďalej API, z angl. active pharmaceutical ingredient) vo forme pevného lieku (napr. tableta, kapsula). Dôvodmi sú hlavne zaužívanosť medzi pacientmi, prirodzený spôsob podania, ale aj relatívne jednoduchá výroba, formulačná stabilita a možnosť kontrolovaného uvoľňovania API, ktoré umožňuje pevná lieková forma. Terapeutický efekt lieku pritom závisí od biologickej dostupnosti API, ktorú vyjadruje rýchlosť a rozsah jej vstupu do systémovej cirkulácie po administrácii. Odtiaľ sa dostáva k miestu účinku (napr. receptor), kde vzniká farmakologický prejav API, ktorého nástup, intenzita a doba trvania sú zásadné pre účinnosť a bezpečnosť lieku počas terapie¹.

Po perorálnom podaní lieku je biologická dostupnosť API výsledkom komplexného deja, ktorý ovplyvňuje rada viacerých faktorov pôsobiacich súčasne (napr. fyzikálno-chemické vlastnosti API a formulácie, fyziologické a farmakokinetické faktory)². V jeho úvode je kľúčová rýchlosť, akou sa API uvoľňuje z pevnej liekovej formy a rozpúšťa v intraluminálnych tekutinách. Rozpustená časť

API, ktorá je stabilná v dynamickom prostredí gastrointestinálneho traktu (GIT) a dostupná v absorpčnom mieste, následne prechádza do systémovej cirkulácie v závislosti od jej permeability³. K rozdielom v rýchlosti a množstve rozpustenej, resp. absorbovanej API, môžu prispievať príjem potravy, tekutín či iných liekov, ako aj faktory na strane organizmu súvisiace so zdravotným stavom a funkčnosťou GIT. V tomto zmysle, úlohou formulácie lieku (napr. zloženie, výrobný proces) je zabezpečiť, či podľa možností zlepšiť biologickú dostupnosť API, svojím robustným a determinovaným *in vivo* správaním⁴.

Za účelom *in vitro* hodnotenia, ako sa liek správa a uvoľňuje API do svojho okolia, vznikla skúška disolúcie. Z jej výsledku, tzv. disolučného profilu API, je možné vyvodit' typ (napr. okamžité, kontrolované), kinetiku (napr. nultého, prvého poriadku) a mechanizmus (napr. eróziou, difúziou, osmoticky) uvoľňovania či dokonca predvídať biologickú dostupnosť API (cit.^{5,6}). Tieto údaje tvoria jednu z najdôležitejších charakteristík pevných liekových foriem, kvôli čomu naša skúška disolúcie kľúčové postavenie vo viacerých oblastiach farmaceutického priemyslu. Ako nástroj kontroly kvality primárne posudzuje konzistentnosť výrobných šarží a stabilitu lieku počas životného cyklu, kde je kľúčová jej rozlišovacia schopnosť k fyzikálnym zmenám vo formulácii a výrobnom procese, ktoré by mohli ovplyvňovať *in vivo* správanie lieku⁷. Vo výskume a vývoji skúška disolúcie môže usmerňovať formulačnú stratégiu a racionálny výber formulácie lieku pre klinické štúdie. K tomu je však nevyhnutná jej schopnosť predvídať *in vivo* správanie lieku za predpokladu, ak svojimi podmienkami dostatočne nahrádza GIT. Bioprediktivnosť skúšky disolúcie najčastejšie demonštruje tzv. *in vitro* – *in vivo* korelácia (IVIVC, z angl. *in vitro* – *in vivo* correlation) vytvorená k údajom z klinických štúdií⁸. Za týchto okolností môže skúška disolúcie slúžiť ako silný indikátor *in vivo* správania lieku. Napomáha identifikácii klinicky relevantných vlastností lieku, čím poskytuje vedecký základ pre vytvorenie operačného priestoru a výrobných kontrol zaisťujúcich kvalitu lieku⁹. Umožňuje predvídať biologickú dostupnosť API, pričom z regulačného hľadiska v súlade s biofarmaceutickým klasifikačným systémom (BCS, z angl. biopharmaceutical classification system) môže dopĺňať či dokonca nahrádzať *in vivo* štúdie biodostupnosti/bioekvivalencie pre formulácie s okamžitým uvoľňovaním s obsahom veľmi rozpustnej API (trieda BCS I a III)¹⁰. Prispieva tým k celkovému znižovaniu záťaže klinických štúdií, nákladov a času pre vývoj a výskum lieku, čo priaznivo ovplyvňuje dostupnosť generických a originálnych liekov na trhu a vo výsledku aj pre pacienta¹¹.

Pre väčší potenciál korelácie s *in vivo* správaním lieku sa do popredia dostávajú biorelevantné skúšky disolúcie, ktorých základ spočíva v simulácii fyziologických pod-

mienok, akým je liek vystavený pasážou cez GIT (cit.¹²). Za týmto účelom boli najprv uvedené biorelevantné disolučné médiá vychádzajúce zo zloženia (napr. prítomnosť enzýmov a žlčových solí) a fyzikálno-chemických vlastností (napr. pH, pufrová kapacita, iónová sila) odobratých intraluminálnych tekutín¹³. S pribúdajúcimi poznatkami o ľudskom tele sú tieto médiá priebežne aktualizované a tiež dostupné vo viacerých verziách podľa jednotlivých častí GIT, príjmu potravy (nalačno, medzi a po jedle) alebo komplexnosti zloženia, čo umožňuje hodnotiť vplyv biochemických aspektov na správanie lieku¹⁴. Využitie týchto médií v liekopisných disolučných prístrojoch bez bližšieho zohľadnenia mechanického vplyvu (napr. vzor motility) a dynamických zmien (napr. pH, objem, sekrecia, transfer), žiaľ, nestačí na vytvorenie komplexných biorelevantných podmienok^{15,16}. To viedlo k vzniku viacerých *in vitro* systémov, ktorých inovatívny vzhlľad a mechanizmus sa zakladá na vernej simulácii GIT a jeho špecifických procesov^{17–22}. Keďže nie všetky prístroje boli primárne navrhnuté pre farmaceutický výskum, cieľom tejto práce je ich aktuálny prehľad a vzájomné porovnanie v zmysle využitia pre skúšky disolúcie, ktoré by poskytovali bližšie informácie o *in vivo* správaní lieku a kinetike API po perorálnom podaní.

2. Prehľad prístrojov

Jedným z predpokladov biorelevantných skúšok disolúcie je realistický *in vitro* systém schopný poskytovať kvalitatívne porovnateľné výsledky s *in vivo* disolúciou lieku²³. Keďže prostredie GIT je heterogénne a dynamické, snahou je simulovať relevantné podmienky pre disolúciu lieku (napr. teplota, zmena pH, objem, enzymatické zloženie a sekrecia štiav, vzor motility, mechanická záťaž, doba prechodu, absorpcia a prítomnosť črevnej mikrobioty) podľa predpokladanej pasáže. Dôležitou súčasťou zohľadnenia býva tiež vplyv potravy, ktorý môže priamo interakciou zložiek či nepriamo zmenou fyziologických procesov a parametrov ovplyvňovať osud lieku²⁴.

Podľa toho, či je prístroj schopný reprodukovat' zmeny podmienok v čase, označujeme ho za „dynamický“ alebo „statický“. V porovnaní so statickými prístrojmi, ktorých výhodou je jednoduché a robustné využitie pre účely skríningu (napr. v kontrole kvality), snahou dynamických prístrojov je poskytovať komplexnejšie informácie o správaní lieku (napr. vo výskume a vývoji), s čím sa spája náročnejší vývoj a validácia oproti *in vivo* údajom. K simulácii rozdielných podmienok v rámci jednotlivých častí GIT využívajú tzv. kompartmenty, podľa čoho sa ďalej rozlišujú na jedno- alebo viac-kompartimentové.

Medzi prvé sofistikovanejšie prístroje patria napríklad dynamický žalúdočný model (DGM, z angl. dynamic gastric model), simulátor ľudského žalúdka (HGS, z angl. human gastric simulator) alebo od TNO gastrointestinálny model (TIM), ktoré boli už skôr popísané^{17,18}. Za poslednú dekádu k nim pribudli ďalšie inovatívne *in vitro* gastrointestinálne systémy, na ktoré sa sústreďuje pozornosť v tejto práci.

2.1. Jedno-kompartimentové systémy

Výhodou jedno-kompartimentových systémov je vernejšia simulácia vybraných biorelevantných podmienok resp. špecifických procesov v rámci jednej časti GIT, čo však môže byť zároveň na úkor komplexného hodnotenia *in vivo* správania lieku. Bližšie porovnanie týchto systémov je možné nájsť v Doplnku, ktorý je dostupný online na stránke Chemických listov (tabuľka I).

2.1.1. Prostredie žalúdka

Dôležitým aspektom simulácie žalúdočného prostredia je mechanické pôsobenie (napr. vzor motility, sila kontrakcií), ktoré môže ovplyvňovať integritu liekovej formy, rýchlosť disolúcie a dostupnosť v absorpčnom mieste v závislosti od kinetiky vyprázdňovania. Charakteristické sú fyzikálno-chemické vlastnosti žalúdočných štiav, ktoré môžu ovplyvňovať stabilitu lieku a v neposlednej rade vplyv potravy. Niektoré systémy dokonca zohľadňujú fyziologický tvar žalúdka a jeho zvrásnený povrch v snahe priblížiť sa *in vivo* hydrodynamickým podmienkam.

Simulátor žalúdočného trávenia (GDS, z angl. gastric digestion simulator)

Simulátor žalúdočného trávenia bol navrhnutý na priame sledovanie a hodnotenie tráviaceho procesu²⁵. Sústavu GDS tvorí priehľadná nádoba (objem 550 ml) s pružnými stenami, a mechanický systém zložený zo špongiových valcov, ktoré pravidelným stláčaním v intervaloch vytvárajú peristaltický pohyb odpovedajúci antrálnej časti žalúdka²⁶. Počet a umiestnenie valcov umožňuje simulovať len jednu pohybujúcu sa vlnu rovnakej frekvencie a amplitúdy v čase. Súčasná verzia prístroja tiež zohľadňuje kontinuálnu žalúdočnú sekreciu a vyprázdňovanie²⁷. Hydrodynamické a mechanické podmienky v GDS boli optimalizované pomocou výpočtovej dynamiky tekutín a rozpadu hydrogélových častíc (zmes agaru a gelanovej gummy) oproti *in vivo* údajom^{28,29}. Hlavnou výhodou prístroja je priehľadný vzhlľad, ktorý umožňuje kombináciu so zobrazovacími technikami, čo by mohlo poskytovať navyše informácie o správaní lieku a distribúcii častíc počas žalúdočného vyprázdňovania za podmienok simulujúcich stav nalačno a po jedle.

Pokročilý simulátor žalúdka (AGS, z angl. advanced gastric simulator)

Pre účely farmaceutického výskumu bol navrhnutý pokročilý simulátor žalúdka, ktorý zohľadňuje geometriu (rozmary, objem a vnútorné zvrásnenie) a motilitu ľudského žalúdka. Hlavné komponenty AGS tvoria pružný silikónový kompartment v tvare žalúdka a osem jednotiek kontrikčného mechanizmu. Tieto jednotky sa v synchronizovanej sekvencii irisovo zatvárajú/otvárajú, čím simulujú špecifický vzor motility a vyprázdňovanie žalúdka. Celý systém je počítačom ovládaný a umožňuje presné nastavenie rýchlosti a sily kontrakcií³⁰. Potenciálnou nevýhodou AGS je chýbajúca kontrola a regulácia pH ako aj sekrecie tráviacich enzýmov. Napriek tomu dokázal s vysokou presnosťou rozlíšiť *in vivo* správanie viacerých

formulácií v porovnaní s liekopisným disolučným prístrojom (USP 2) za podmienok simulujúcich mechanickú záťaž (matricové tablety s API z triedy BCS II – málo rozpustná, veľmi permeabilná) a žalúdočné vyprázdňovanie (tablety s okamžitým uvoľňovaním s API z triedy BCS III – veľmi rozpustná, málo permeabilná) v stave nalačno a po jedle^{31–33}. Výhodou AGS je ďalej kombinácia s intestinálnym modelom simulujúcim peristaltiku (opísaný nižšie).

Model simulovaného žalúdka (GSM, z angl. gastric simulation model)

Prístroj navrhol Kong a spol. po predchádzajúcich skúsenostiach na prístroji HGS a vychádza z realistickej geometrie a motility ľudského žalúdka³⁴. Sústavu GSM tvorí flexibilný latexový kompartment žalúdka, ktorý je umiestnený vnútri plastovej formy. Po obvode kompartmentu sú v jedenástich vrstvách umiestnené pneumatické prvky, ktoré synchronizovaným stláčaním vytvárajú motilitu a mechanickú záťaž. Výhodou GSM je verná simulácia propagácie peristaltiky (frekvencia, amplitúda, sila), žalúdočnej sekrécie a vyprázdňovania. Aj keď prístroj bol doteraz skúšaný len v rámci nutričného výskumu, jeho širší potenciál vyplýva z vysokej fyziologickej relevancie či možnosti kombinácie s modelom ľudského duodena (opísaný nižšie)³⁵.

2.1.2. Prostredie tenkého čreva

Tenké črevo predstavuje absorpčné miesto väčšiny API vďaka záhybom na sliznici (tzv. kľky a ďalej mikrokľky), ktoré výrazne zväčšujú jeho povrch. Prostredie tenkého čreva je najmä charakteristické sekréciou žľazových solí a pankreatických štiav, vyšším pH (5–7) a špecifickou distribúciou tekutín (50–100 ml) do menších častí v dôsledku črevnej peristaltiky (tzv. segmentácie)³⁶. Tieto podmienky sa ďalej progresívne menia pasážou cez jednotlivé časti tenkého čreva (duodenum, jejunum a ileum v poradí).

Intestinálny model simulujúci peristaltiku (IMSPA, z angl. intestinal model simulating peristaltic action)

Tento intestinálny model bol navrhnutý za účelom precíznej simulácie peristaltiky tenkého čreva. K simulácii tenkého čreva využíva pružnú silikónovú trubicu (objem 250 ml), pozdĺž ktorej sú umiestnené štyri irisové konštrikčné mechanizmy. To celé je vyhotovené v dvoch replikách, ktoré sú vedľa seba umiestnené na pohyblivej biaxiálnej plošine. Podľa špecifického protokolu sú počítačom ovládané jednotlivé kontrakcie a náklon plošiny, čím je simulovaný peristaltický pohyb s mechanickou záťažou, a premiešavanie s presunom obsahu. Nevýhodou IMSPA je, žiaľ, chýbajúca kontrola a regulácia pH a tiež sekrécie tráviacich enzýmov. Napriek tomu však prístroj dokázal rozlíšiť rozdielne formulácie s predĺženým uvoľňovaním API z triedy BCS III (veľmi rozpustná a málo permeabilná) v súlade s *in vivo* údajmi³⁷. Výhodou IMSPA je možnosť kombinácie s AGS pre komplexnejšie hodnotenie správania lieku z pohľadu *in vivo* mechanickej záťaže a hydrodynamiky.

Model ľudského duodena (HDM, z angl. human duodenum model)

Model ľudského duodena vznikol s cieľom bližšie pochopiť vplyv črevnej peristaltiky a jeho tvaru na intraluminálny pohyb a absorpciu látok. Telo HDM tvorí vonkajšia akrylová forma stvárňujúca sigmoidálny tvar ľudského duodena so vzostupnými a zostupnými časťami. Vnútri je umiestnená semipermeabilná trubica a desať kontraktálnych kruhov regulovaných pneumatically, ktoré simulujú črevný trakt a jeho peristaltiku. Medzi trubicou a akrylovou formou je zaistená cirkulácia tzv. recipientnej tekutiny, z ktorej sa hodnotí množstvo pasívne prestúpených látok a zároveň udržiava v systéme fyziologickú teplotu. HDM tiež zohľadňuje presun chýmu a sekréciu enzýmov ako súčasť črevných štiav pomocou peristaltických púmp. Jeho pilotné testovanie demonštrovalo zásadný vplyv črevnej geometrie a segmentácie na zvýšenie účinnosti trávenia a absorpcie látok³⁸. Aj keď HDM bol primárne navrhnutý pre nutričný výskum, samostatne či v kombinácii s GSM, vedel by nájsť uplatnenie v testovaní formulácií s okamžitým uvoľňovaním a dostupnosti API s úzkym absorpčným oknom typicky v hornej časti GIT.

2.1.3. Prostredie hrubého čreva

Simulácia hrubého čreva je najmä relevantná v prípade liekov s dlhšou dobou prechodu cez GIT (napr. s riadeným uvoľňovaním), kde je API určená k lokálnemu alebo systémovému účinku³⁹. Absorpcia v hrubom čreve je malá a môže byť variabilná vplyvom nestrávených zvyškov jedla, husto osídlenej mikrobioty a menšieho množstva tekutín kvôli reabsorpcii vody a minerálov. Vzhľadom na nízku aktivitu biodegradačných enzýmov, nižšiu motilitu a vyššie pH, môže hrubé črevo predstavovať potenciálne miesto aplikácie proteínov, peptidov a API, ktoré sú zle vstrebateľné z proximálnej časti GIT alebo vyžadujú biotransformáciu črevnou mikrobiotou^{40–42}. Dlhší retenčný čas (12–72 h) môže navyše zvyšovať účinnosť absorpčných enhancérov⁴³.

Dynamický model hrubého čreva (DCM, z angl. dynamic colon model)

Dynamický model hrubého čreva vznikol za účelom simulácie fyziologických podmienok s ohľadom na geometriu a motilitu proximálnej časti ľudského hrubého čreva. DCM tvorí desať segmentov spojených do tvaru trubice, ktorá odpovedá fyziologickým rozmerom vrátane šírky vydutí (tzv. haustra). Pomocou hydraulického systému ovládaného počítačom sú tieto segmenty synchronizovane stláčané a uvoľňované, čím realisticky stvárňujú motilitu a mechanickú záťaž⁴⁴. Využitie DCM umožňuje bližšie pochopiť disolúciu a distribúciu API v hrubom čreve (spolu 10 odberových miest), čo bolo demonštrované aj proti liekopisnému disolučnému prístroju (USP 2) pomocou modelových tabliet s modifikovaným uvoľňovaním API z triedy BCS I (vysoká rozpustnosť a permeabilita). Kombinácia DCM so zobrazovacími technikami potvrdila rýchlejší pohyb častíc na povrchu tekutín, resp. podľa ich vztlaku, čo môže prispieť k zlepšeniu formulácií a expozi-

cii API čo najväčšej ploche hrubého čreva⁴⁵. Prototyp prístroja zatiaľ nezohľadňuje proces absorpcie.

Model umelého hrubého čreva (ARCOL, z angl. artificial colon model)

Tento fermentačný model bol navrhnutý pre simuláciu trávenia v hrubom čreve. Zohľadňuje viacero podmienok *in vivo* fermentácie, ako sú pH, teplota, prísun črevných štiav, doba prechodu, prítomnosť komplexnej mikrobioty a pasívna absorpcia vody vrátane metabolitov. Je to jeden z mála systémov, ktoré udržiavajú anaeróbne podmienky vlastnou aktivitou mikrobioty. Validovaný bol oproti *in vivo* dátam v zmysle nutričného prostredia, zloženia mikrobioty a metabolickej aktivity. Napriek tomu, že ARCOL nezohľadňuje realistický tvar či peristaltiku, primárne využitie nachádza v hodnotení vplyvu jednotlivých či opakovane podávaných látok (napr. probiotika, prebiotika, antibiotika) na stav a aktivitu mikrobioty, vrátane vzniku, vplyvu či absorpčnej dostupnosti ich metabolitov⁴⁶. Jeho nedávne využitie umožnilo posúdiť účinnosť perorálnej formulácie určenej k transplantácii mikrobioty po terapii antibiotikami za zrovnateľnú s klystýrom⁴⁷.

2.2. Viac-kompartimentové systémy

Pasážou cez GIT je liek vystavený kontinuálnym zmenám prostredia. Premenná kinetika, objem a zloženie spolu s fyzikálno-chemickými vlastnosťami intraluminálnych tekutín môžu priamo ovplyvňovať správanie lieku. Zatiaľ čo u jedno-kompartimentových prístrojov riešenie ponúka tandemová aplikácia, v prípade ich laboratórnej dostupnosti a kompatibility, výhodou viac-kompartimentových systémov je simulácia kontinuálnej pasáže lieku cez viaceré časti GIT (podľa počtu kompartimentov), čím poskytujú komplexnejší pohľad na jeho správanie vplyvom regionálnych zmien v reálnom čase (bez prerušenia). Kompartimenty sú zapojené v sérii, pričom presun obsahu medzi nimi zaisťujú rôzne pumpy alebo v sofistikovanejších prípadoch systém vlastnej peristaltiky. Porovnanie týchto systémov je súčasťou Doplňku (tab. II).

Transferové modely

Jednoduchú simuláciu pasáže lieku umožňujú tzv. transferové systémy, ktoré vznikli modifikáciou existujúcich liekopisných prístrojov, avšak neskôr prevzali inovatívny vzhľad a ďalšie prvky (napr. menšie nádoby, pumpy, systém miešania), ktoré umožňujú presnejšie zohľadnenie vybraných biorelevantných podmienok (napr. zmeny pH, nižší objem, kinetika, sekrécia štiav, hydrodynamika). Ich základ tvoria dva kompartimenty reprezentujúce žalúdok a tenké črevo (resp. duodenum) spojené peristaltickou pumpou. K ich súčasným zástupcom patrí napríklad biorelevantný gastrointestinálny transferový systém (BioGIT), ktorý využíva navyše rezervný kompartiment zaisťujúci kontinuálny prietok a stály objem črevných štiav⁴⁸. Zariadenie so sklenenými guľôčkami (GBD, z angl. glass bead device) k tomu pridáva simuláciu peristaltickej záťaže pohybom sklenených guľôčiek⁴⁹. Niektoré systémy zohľad-

ňujú v sérii tretí kompartiment, ako napríklad systémový/absorpčný u FloVito⁵⁰ alebo v prípade gastrointestinálneho simulátora (GIS) nadväzujúcu časť tenkého čreva (jejunum)⁵¹. Napriek aproximácii peristaltiky, ktorú v týchto systémoch zaisťuje magnetické či pádlové miešanie, je ich výhodou zohľadnenie tzv. sink podmienok (nekonečné zriedenie) a eliminácie API, čím vykazujú nižšiu náchylnosť k nadhodnoteniu precipitácie a supersaturácie. Hlavné uplatnenie preto nachádzajú v hodnotení formulácií s obsahom málo rozpustných disociovateľných API (trieda BCS II a IV)⁵².

GastroDuo

GastroDuo je prietokový disolučný prístroj, ktorý simuluje motilitu žalúdka, vrátane kinetiky vyprázdňovania a zmien pH v stave na lačno a po jedle⁵³. Ako trojkompartimentový prístroj kombinuje prvky transferového modelu a stresového zariadenia⁵⁴. Jeho centrálnu časť tvorí žalúdočná cela, kde je umiestnená lieková forma medzi dvoma lopatkami, ktorých vratným pohybom dochádza k simulácii jej pohybu po povrchu GI traktu. Medzi lopatkami sa ďalej nachádza nafukovací balónik, ktorý simuluje žalúdočné kontrakcie odpovedajúcou silou. Žalúdočná cela má kapacitu 50 ml, kde je privádzané disolučné médium z tzv. donorovej nádoby, s možnosťou úpravy pH. Presun média zo žalúdočnej cely je kontrolovaný pomocou peristaltickej pumpy do tzv. akceptorovej nádoby. Hodnoty pH a množstvo rozpustenej API sú súčasne zaznamenávané na výstupe zo žalúdočnej cely a v akceptorovej nádobe, čo poskytuje presnejší odhad dostupnej API k absorpcii v závislosti od pH a kinetiky vyprázdňovania. GastroDuo dokázal objasniť variabilitu vo farmakokinetike viacerých liekových foriem s okamžitým uvoľňovaním, ktorá bola ovplyvnená rýchlejšim žalúdočným vyprázdňovaním nekolorických tekutín v stave po jedle, tzv. žalúdočnou cestou (z nem. Magenstraße)⁵⁵. Demonštruje tým dôležitosť nielen tohto fenoménu, ale aj použitia vhodných formulačných techník pre dosiahnutie rýchleho a spoľahlivého nástupu účinku API po jedle⁵⁶.

Simulátor tráviaceho traktu „Golem“

Za účelom komplexnej simulácie GIT vznikol biorelevantný dynamický disolučný prístroj Golem^{57,58}. Ide o počítačom ovládaný systém, ktorý tvoria štyri kompartimenty (modifikované infúzne vaky) reprezentujúce žalúdok a tri časti tenkého čreva (duodenum, jejunum a ileum) s dynamickou reguláciou biorelevantných podmienok (napr. teplota, objem, pH, sekrécia enzýmov, motilita a presun obsahu). Nová verzia prístroja Golem v2 uvádza navyše niekoľko technických vylepšení, ako napríklad oddelené elektrické miešanie, polohovanie výhrevnej dosky a nový tvar kompartimentov. Prototyp prístroja bol využitý v biorelevantnom testovaní rozdielnych formulácií s obsahom API z triedy BCS II (málo rozpustná a veľmi permeabilná) s úspešným vytvorením IVIVC (cit.⁵⁷). V novej verzii prístroja boli nedávno optimalizované hydrodynamické podmienky. V porovnaní s liekopisným prístrojom (USP 2) vykazoval Golem v2 zrovnateľnú účinnosť a zároveň vyššiu versatilitu v simulácii biorelevant-

ných podmienok s nižším disolučným objemom a agitáciou⁵⁸. K jeho hlavným výhodám patrí jednoduché konštrukčné riešenie, ovládateľnosť a relatívne nízke obstarávacie náklady.

Malý-TIM s pokročilým kompartmentom žalúdka

Doposiaľ najkomplexnejšiu simuláciu GIT predstavuje viac-kompartimentový *in vitro* systém TIM od holandskej spoločnosti TNO pre aplikovaný výskum, ktorý existuje v niekoľkých verziách podľa simulácie jednotlivých častí GIT. Pre účely skríningu bola nedávno navrhnutá zjednodušená verzia pre priemyselné, ale aj akademické využitie, malý-TIMsg (z angl. tiny-TIM „smartificial gut“), ktorá nerozdeľuje tenké črevo na jednotlivé časti v porovnaní so základnou verziou (TIM-1)^{59,60}. Prístroj tvoria dva kompartmenty, v ktorých je simulované prostredie žalúdka a tenkého čreva, ďalej dávkovací systém pre presnú distribúciu tráviacich štiav a odber vzoriek. Pokročilý kompartment žalúdka zohľadňuje realistický tvar a motilitu žalúdka, vrátane simulácie pyloru kontrolovaným vyprázdňovaním obsahu⁶¹. Z kompartmentu tenkého čreva je následne hodnotená dostupnosť API k absorpcii (tzv. biopristupnosť, z angl. bioaccessibility) pomocou pasívnej difúzie systémom dialýzy/filtrácie. Celý systém je ovládaný počítačom (napr. mechanická záťaž, zmeny pH, sekrécia enzýmov, objem a transfer) a vie byť prispôsobený rozdielnym biorelevantným podmienkam. Malý-TIMsg bol doteraz využitý pri predikcii *in vivo* správania viacerých liekových foriem (napr. s okamžitým a kontrolovaným uvoľňovaním) v závislosti od vplyvu potravy alebo tiež liečiv znižujúcich kyslosť žalúdka^{59,62,63}. V upravenej verzii bol dokonca validovaný aj pre rôzne vekové skupiny detí (38. týždeň až 2 roky) ako TIMpediatric⁶⁴.

3. Záver

Skúška disolúcie predstavuje kľúčový nástroj v hodnotení pevných perorálnych liekových foriem vo farmaceutickom priemysle. Neustále zvyšujúce sa požiadavky na skúšku disolúcie a jej klinickú relevantnosť majú za cieľ zvýšiť jej schopnosť správne predvídať *in vivo* správanie lieku, čo si vyžaduje adekvátnu simuláciu fyziologických podmienok, akým je liek vystavený počas pasáže cez GIT. Z dôvodu mnohých limitácií liekopisných disolučných prístrojov v simulácii fyziologických podmienok (napr. zmena pH, nižší objem, agitácia, absorpcia, vplyv potravy a mikrobioty), sa do popredia dostávajú biorelevantné disolučné prístroje vyvíjané za účelom komplexnej simulácie dynamických podmienok v GIT. Tieto prístroje sú dnes dostupné od jedno-kompartimentových verne simulujúcich konkrétnu časť GIT, resp. jeho špecifické procesy, až po viac-kompartimentové s kontinuálnom presunom obsahu medzi viacerými časťami GIT. Pri výbere adekvátneho prístroja je nutné vychádzať z 1) rozsahu biorelevantných podmienok, ktoré majú byť simulované (napr. žalúdok, celý GIT), 2) požadovanej presnosti simulácie (napr. vzor motility, transfer, hydrodynamika, absorpcia, zloženie mikrobioty), ako aj 3) časových

a finančných možností. Význam biorelevantných disolučných prístrojov bude rásť aj v budúcnosti a je možné očakávať ich ďalší vývoj, ktorý bude reflektovať pribúdajúce poznatky o ľudskom tele a technologické možnosti, s cieľom zvyšovať vernosť a reprodukovateľnosť meraní, a zároveň nachádzať kompromis medzi komplexnosťou, užívateľskou jednoduchosťou a spotrebnými nákladmi.

Internetová verzia tejto práce obsahuje navyše doplnujúcu časť (tab. I a II). Pre vyhľadanie príslušného Doplnku je nutné otvoriť aktuálnu webovú stránku Chemických listov.

LITERATÚRA

1. Qiu Y., Chen Y., Zhang G. G., Yu L., Mantri R. V.: *Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory and Practice*, 2. vyd. Academic Press, Boston 2017.
2. Dressman J. B., Lennernas H.: *Oral Drug Absorption: Prediction and Assessment*. Marcel Dekker Inc., New York 2000.
3. Shargel L., Yu A. B. C.: *Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics*, 7. vyd. McGraw-Hill Education, New York 2015.
4. Mudie D. M., Amidon G. L., Amidon G. E.: *Mol. Pharm.* 7, 1388 (2010).
5. Muselík J., Komersová A., Lochař V., Kubová K.: *Chem. Listy* 113, 328 (2019).
6. Muselík J., Vysloužil J., Kubová K., Bartoníčková E., Brus J., Gajdziok J., Franc A., Hickey K., Kejdušová M., Mašek J.: *Modern Instrumental Methods in Solid Dosage Form Analysis*. Munipress, Brno 2021.
7. Friedel H. D. a 11 spoluautorov: *J. Pharm. Sci.* 107, 2995 (2018).
8. Tuszynski P. K., Szlek J., Polak S., Jachowicz R., Mendyk A.: *Dissolut. Technol.* 25, 20 (2018).
9. ICH: *Harmonised Tripartite Guideline: Pharmaceutical Development*, Q8 (R2), 2009: https://database.ich.org/sites/default/files/Q8_R2_Guideline.pdf, stiahnuté 8. 6. 2021.
10. ICH: *Harmonised Guideline: Biopharmaceutical Classification System-based Biowaivers*, M9, 2018: https://database.ich.org/sites/default/files/M9_Guideline_Step4_2019_1116.pdf, stiahnuté 8. 6. 2021.
11. Grady H., Elder D., Webster G. K., Mao Y., Lin Y., Flanagan T., Mann J., Blanchard A., Cohen M. J., Lin J.: *J. Pharm. Sci.* 107, 34 (2018).
12. Culen M., Rezacova A., Jampilek J., Dohnal J.: *J. Pharm. Sci.* 102, 2995 (2013).
13. Dressman J. B., Amidon G. L., Reppas C., Shah V. P.: *Pharm. Res.* 15, 11 (1998).
14. Vraníková B., Franc A., Gajdziok J., Vetchý D.: *Chem. Listy* 110, 126 (2016).
15. Vertzoni M., Fotaki N., Nicolaides E., Reppas C., Kostewicz E., Stippler E., Leuner C., Dressman J.: *J. Pharm. Pharmacol.* 56, 453 (2004).
16. Fotaki N., Vertzoni M.: *Open Drug Deliv. J.* 4, 2 (2010).

17. Gruberová L., Kratochvíl B.: *Chem. Listy* 109, 908 (2015).
18. Culen M., Dohnal J.: *Drug Dev. Ind. Pharm.* 40, 1277 (2014).
19. Li Z., He X.: *Curr. Drug Metab.* 16, 777 (2015).
20. Bergstrom C. A. a 17 spoluautorov: *Eur. J. Pharm. Sci.* 57, 173 (2014).
21. Kostewicz E. S. a 18 spoluautorov: *Eur. J. Pharm. Sci.* 57, 342 (2014).
22. McAllister M.: *Mol. Pharm.* 7, 1374 (2010).
23. Marze S.: *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 8, 35 (2017).
24. O'Shea J. P., Holm R., O'Driscoll C. M., Griffin B. T.: *J. Pharm. Pharmacol.* 71, 510 (2019).
25. Kozu H., Nakata Y., Nakajima M., Neves M. A., Uemura K., Sato S., Kobayashi I., Ichikawa S.: *Food Sci. Technol. Res.* 20, 225 (2014).
26. Kozu H., Kobayashi I., Neves M. A., Nakajima M., Uemura K., Sato S., Ichikawa S.: *Food Funct.* 5, 1839 (2014).
27. Kozu H., Kobayashi I., Nakajima M., Neves M. A., Uemura K., Isoda H., Ichikawa S.: *Biochem. Eng. J.* 122, 85 (2017).
28. Wang Z., Kozu H., Uemura K., Kobayashi I., Ichikawa S.: *Food Hydrocolloid.* 110, 106166 (2021).
29. Kobayashi I., Kozu H., Wang Z., Isoda H., Ichikawa S.: *Jpn. Agr. Res. Q.: JARQ* 51, 17 (2017).
30. Hribar M., Trontelj J., Berglez S., Bevc A., Kuscer L., Diaci J., Legen I.: *Dissolut. Technol.* 26, 20 (2019).
31. Vrbanac H., Trontelj J., Berglez S., Petek B., Opara J., Jereb R., Krajcar D., Legen I.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 149, 113 (2020).
32. Vrbanac H., Trontelj J., Kalčič Š., Legen I.: *J. Drug Delivery Sci. Technol.* 60, 102034 (2020).
33. Vrbanac H., Trontelj J., Berglez S., Kreft K., Krajcar D., Legen I.: *J. Drug Delivery Sci. Technol.* 55, 101338 (2020).
34. Kong F., Singh R. P.: *J. Food Sci.* 75, E627 (2010).
35. Li Y., Fortner L., Kong F.: *Food Res. Int.* 125, 108598 (2019).
36. Mudie D. M., Murray K., Hoad C. L., Pritchard S. E., Garnett M. C., Amidon G. L., Gowland P. A., Spiller R. C., Amidon G. E., Marciani L.: *Mol. Pharm.* 11, 3039 (2014).
37. Hribar M., Trontelj J., Klančar U., Markun B., Celigoj Dujc T., Legen I.: *AAPS PharmSciTech* 18, 1646 (2017).
38. Wright N. D., Kong F., Williams B. S., Fortner L.: *J. Food Eng.* 171, 129 (2016).
39. Butler J. a 21 spoluautorov: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 136, 70 (2019).
40. Yang L., Chu J. S., Fix J. A.: *Int. J. Pharm.* 235, 1 (2002).
41. Philip A. K., Philip B.: *Oman Med. J.* 25, 79 (2010).
42. Dvořáčková K., Franc A., Kejdušová M.: *Chem. Listy* 107, 522 (2013).
43. Basit A., Bloor J.: *Pharm. Technol.* 185 (2003).
44. Stamatopoulos K., Karandikar S., Goldstein M., O'Farrell C., Marciani L., Sulaiman S., Hoad C. L., Simmons M. J. H., Batchelor H. K.: *Pharmaceutics* 12, 659 (2020).
45. Stamatopoulos K., Batchelor H. K., Simmons M. J. H.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 108, 9 (2016).
46. Blanquet-Diot S., Denis S., Chalancon S., Chaira F., Cardot J. M., Alric M.: *Pharm. Res.* 29, 1444 (2012).
47. Verdier C., Denis S., Gasc C., Boucinha L., Uriot O., Delmas D., Dore J., Le Camus C., Schwintner C., Blanquet-Diot S.: *Microorganisms* 9, 358 (2021).
48. Kourentas A., Vertzoni M., Barmapsalou V., Augustijns P., Beato S., Butler J., Holm R., Ouwerkerk N., Rosenberg J., Tajiri T.: *AAPS J.* 20, 71 (2018).
49. Bogataj M., Cof G., Mrhar A.: *Dissolut. Technol.* 22, 18 (2015).
50. Box K., O'Dwyer P., Watson H.: *Br. J. Pharm.* 2, S9 (2017).
51. Takeuchi S., Tsume Y., Amidon G. E., Amidon G. L.: *J. Pharm. Sci.* 103, 3416 (2014).
52. O'Dwyer P. J., Litou C., Box K. J., Dressman J. B., Kostewicz E. S., Kuentz M., Reppas C.: *J. Pharm. Pharmacol.* 71, 536 (2019).
53. Sager M., Schick P., Mischek M., Schulze C., Hasan M., Kromrey M.-L., Benameur H., Wendler M., Tzvetkov M. V., Weitschies W.: *Pharmaceutics* 11, 659 (2019).
54. Garbacz G., Klein S., Weitschies W.: *Expert Opin. Drug Delivery* 7, 1251 (2010).
55. Schick P., Sager M., Wegner F., Wiedmann M., Schapperer E., Weitschies W., Koziolk M.: *Mol. Pharm.* 16, 4651 (2019).
56. Schick P., Sager M., Voelker M., Weitschies W., Koziolk M.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 151, 9 (2020).
57. Čulen M., Tuszyński P. K., Polak S., Jachowicz R., Mendyk A., Dohnal J.: *BioMed Res. Int.* 2015, 328628 (2015).
58. Stupák I., Pavloková S., Vysloužil J., Dohnal J., Čulen M.: *Molecules* 22, 2042 (2017).
59. Verwei M., Minekus M., Zeijdner E., Schilderink R., Havenaar R.: *Int. J. Pharm.* 498, 178 (2016).
60. TIM: <https://thetimcompany.com/systems/>, stiahnuté 8. 6. 2021.
61. Bellmann S., Lelieveld J., Gorissen T., Minekus M., Havenaar R.: *Food Res. Int.* 88, 191 (2016).
62. Schilderink R., Protopappa M., Fleth-James J., Vertzoni M., Schaefer K., Havenaar R., Kulla I., Metzger M., Reppas C.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 149, 154 (2020).
63. Liu J., Nagapudi K., Dolton M. J., Chiang P.-C.: *J. Pharm. Sci.* 110, 3020 (2021).
64. Havenaar R., Anneveld B., Hanff L. M., de Wildt S. N., de Koning B. A., Mooij M. G., Lelieveld J. P., Minekus M.: *Int. J. Pharm.* 457, 327 (2013).

T. Bílik^a, I. Stupák^b, J. Vysloužil^a, M. Čulen^b, and J. Dohnal^c (^a *Department of Pharmaceutical Technology,* ^b *Department of Chemical Drugs,* ^c *Department of Applied Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Masaryk University, Brno*): **An Overview of Biorelevant Dynamic Dissolution Instruments**





The use of solid oral dosage forms depends on the degree of bioavailability of the active pharmaceutical ingredient. The rate and extent of the drug released from the dosage form and subsequently dissolved in the gastrointestinal fluids greatly affects its fate in the human body. *In vitro* dissolution test may provide an in-depth under-

standing of a drug formulation's behaviour *in vivo*, as long as it sufficiently simulates relevant gastrointestinal conditions. Therefore, the development of *in vitro* gastrointestinal systems, which reflects advanced technology and knowledge about the human body, is receiving considerable attention. This article is focused on the biorelevant dynamic apparatuses and their sophisticated design, overcoming many limitations of conventional dissolution devices and allowing a better correlation with *in vivo* behaviour of solid oral dosage forms.

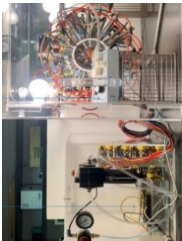



Keywords: solid oral dosage forms, biorelevant dissolution test, *in vitro* gastrointestinal system

DOPLNĚK


Tabuľka I
Porovnanie jedno-kompartimentových *in vitro* systémov

Názov	Časť	pH	Sekrécia	Motilia	Transfer	Absorpcia	Potrava	Mikrobota	PC	Fotografia/schéma
DGM	žalúdok	+	sliny, žalúdočná šťava, HCl	kontrakcie vodným tlakom pomocou piestu a barelu	+	–	+	–	+	
HGS	žalúdok	+	sliny, žalúdočná šťava, HCl	kontrakcie mechanickým zariadením pohybom excentrických koliesok	peristaltická pumpa	–	+	–	+	
GDS	žalúdok	–	sliny, žalúdočná šťava	elektrický mechanizmus zložený z valcov a pásov	–	–	+	–	–	
AGS	žalúdok (realistický tvar)	–	–	kontrakcie irisovým mechanickým zariadením	simulácia MMC, pyloru a žalúdočného vyprázdňovania	–	+	–	+	

Tabuľka I
Pokračovanie

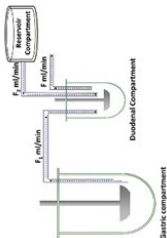

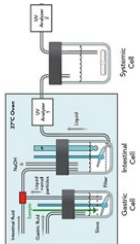
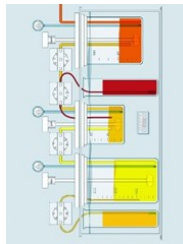
Názov	Časť	pH	Sekrécia	Motilia	Transfer	Absorpcia	Potrava	Mikrobota	PC	Fotografia/schéma
GSM	žalúdok (realistický tvar)	–	žalúdočné šťavy	mechanizmus zložený zo série nafukovacích balónikov	simulácia žalúdočného vyprázdňovania peristaltickou pumpou	–	+	–	+	
IMSPA	tenké črevo	–	–	kontrakcie irisovým mechanickým zariadením	–	–	–	–	+	
HDM	tenké črevo (sigmoidáln y tvar du- odena)	+	črevná šťava	kontrakčné prstene nafukované vzduchom	simulácia peristaltiky	–	+	–	–	
DCM	hrubé črevo (realistický tvar)	+	ileálne médium	hydraulický systém ovládaný krokovým motorom	–	–	–	–	+	

Tabuľka I
Pokračovanie




Názov	Časť	pH	Sekrécia	Motília	Transfer	Absorpcia	Potrava	Mikrobota	PC	Fotografia/schéma
ARCOL	hrubé črevo	+	ileálne médium	otočné miešadlo typu Rushton	peristaltická pumpa	pasívna absorpcia dialýzou	+	laminálna a mukózna	–	

Pozn.: + parameter vie byť simulovaný; – parameter nevie byť simulovaný

Tabuľka II
Porovnanie viac-kompartimentových *in vitro* systémov

Názov	Časť	pH	Sekrécia	Motília	Transfer	Absorpcia	Potrava	Mikrobiota	PC	Fotografia/schéma
BioGIT	žalúdok duodenum	+	črevná šťava	otočné miešadlo s pádlom	peristaltické pumpy	–	–	–	–	
GBD	žalúdok duodenum jejunum	+	+	magnetické miešadlo a vrstva sklenených gulôčiek	peristaltické pumpy	–	–	–	–	
FloViro	žalúdok tenké črevo a systémo- vý kompartiment	+	žalúdočná a črevná šťava	otočné miešadlo s pádlom	peristaltická pumpa	transfer do systé- mového kompar- timentu cez filter	–	–	–	
GIS	žalúdok duodenum jejunum	+	žalúdočná a črevná šťava	otočné miešadlo s pádlom	peristaltické pumpy	–	–	–	+	

Tabuľka II
Pokračovanie

Názov	Časť	pH	Sekrécia	Motília	Transfer	Absorpcia	Potrava	Mikrobiota	PC	Fotografia/schéma
Gastro-Duo	žalúdok	+	–	motoricky ovládané vratné pádlo s nafukovacím balónom	peristaltická pumpa	transfer do akceptorového kompartimentu	–	–	+	
Golem v2	žalúdok duodenum jejunum ileum	+	žlčové soli	kolisavý pohyb pádla na povrchu kompartimentu	podľa špecifikácii metódy peristaltickými pumpami	–	–	–	+	
tiny-TIMsg	žalúdok tenké črevo	+	sliny, žalúdočná šťava	kontrakcie vodným tlakom cez plášť kompartimentu	simulácia pyloru a žalúdočného vyprázdňovania	dialýza a filtrácia	+	–	+	

Pozn.: + parameter vie byť simulovaný; – parameter nevie byť simulovaný